

***Camponotus femuratus* (Formicidae: Myrmicinae) recruta operárias em resposta a compostos voláteis das epífitas em jardins de formigas**

Laura Carolina Leal

Introdução

Plantas possuem diversas estratégias para evitar o consumo por herbívoros. Essas estratégias de defesa podem ser classificadas como diretas ou indiretas. Defesas diretas ocorrem quando modificações na morfologia ou no metabolismo das plantas reduzem sua palatabilidade para os predadores (Schaller 2008). Por outro lado, defesas indiretas envolvem a interação da planta com predadores e parasitóides de herbívoros que, ao consumi-los, reduzem a pressão de herbivoria sobre as plantas (Bruinsma & Dicke 2008). Neste caso, a resposta de defesa indireta é desencadeada principalmente por compostos voláteis liberados pelos tecidos vegetais lesionados (Schaller 2008).

Interações entre plantas e formigas consistem em um dos mais bem conhecidos exemplos de defesa indireta contra herbivoria em florestas tropicais (Hölldobler & Wilson 1990, Heil & McKey 2003). Alguns desses mutualismos são bastante difusos, com um grupo de plantas podendo interagir

com uma ampla gama de formigas, entre as quais só algumas podem trazer algum benefício à sua planta parceira. Já outras ocorrem de forma mais especializada, havendo apenas um pequeno conjunto de formigas capazes de explorar o recurso ofertado pelas plantas. Um exemplo dessas interações especializadas ocorre entre plantas mirmecófitas e suas formigas parceiras. Essas plantas possuem domáceas (i.e. estruturas ocas que servem de sítio de nidificação para as formigas) colonizadas por formigas que defendem a planta hospedeira contra ataque de herbívoros. Essa relação é bastante específica, uma vez que cada espécie de mirmecófita é ocupada por uma espécie de formiga mutualista (Ness *et al.* 2010). Para muitas dessas associações, as formigas são capazes de perceber e responder a sinais químicos liberados por tecidos lesionados da planta hospedeira quando ela é consumida por herbívoros (Agrawal 1998). Como a aptidão da colônia está intimamente ligada ao vigor da planta hospedeira, a evolução de resposta a sinais químicos

provenientes de danos foliares pode ter maximizado a eficiência de defesa das plantas mirmecófitas (Christianini & Machado 2004). No entanto, não se sabe ainda se essa resposta das formigas ocorre especificamente para defesa da planta hospedeira ou por um estímulo alimentar, no qual operárias são recrutadas para capturar e consumir os herbívoros.

Jardim de formiga é um outro exemplo de interação especializada desenvolvida entre plantas e formigas em florestas tropicais da América do Sul e Ásia (Hölldobler & Wilson 1990). Estes jardins consistem em agregados de epífitas reunidas por formigas de diferentes espécies que vivem em parasimbiose (Davidson 1988). As formigas incorporam as sementes dessas epífitas às paredes dos seus ninhos e quando as sementes germinam, as raízes aumentam a estabilidade da colônia junto a planta. Estas epífitas também fornecem alimento às formigas através de nectários extra-florais e frutos com arilo ou elaiossomo (Hölldobler & Wilson 1990). Para as epífitas, os benefícios dessa interação parecem estar relacionados com disponibilidade de nutrientes fornecidos pelos ninhos e com defesa contra herbívoros pelas formigas (Santos 1999). Neste sistema, já foi demonstrado que as formigas

removem os herbívoros e também respondem a danos físicos nas folhas das epífitas. No entanto, ainda não foi descrito se as formigas dos jardins são capazes de perceber sinais químicos dos herbívoros ou da herbivoria, como ocorre em plantas mirmecófitas (Santos 1999, Vieira-Neto *et al.* 2006). Se os jardins disponibilizam às formigas alimento e sítio de nidificação, é possível que as formigas defendam as plantas de forma similar ao que acontece em plantas mirmecófitas, respondendo a compostos voláteis liberados por estas plantas quando consumidas.

Meu objetivo foi investigar quais estímulos desencadeiam a defesa nos jardins de formigas pelas formigas. Minhas hipóteses são: (1) se as formigas do jardim possuem capacidade de perceber estímulos voláteis liberados pela epífitas predadas, a defesa dos jardins deverá ocorrer em resposta a compostos liberados após a herbivoria das folhas das epífitas; (2) se as formigas respondem aos estímulos relacionados a disponibilidade de alimento, a defesa dos jardins deverá ocorrer em resposta a presença de herbívoros.

Métodos

Sistema de estudo

Os jardins de formigas da Amazônia Central são formados pela associação parasimbiótica de *Camponotus femuratus* (Formicinae) e *Crematogaster levior* (Myrmicinae). Formigas *C. levior* iniciam a construção dos ninhos em ramos de plantas lenhosas ou na base de epífitas e aderem sementes de epífitas as paredes dos ninho. Após a construção, formigas *C. femuratus* ocupam os ninhos, se alojando em câmaras adjacentes aos ninhos das fundadoras (Omena 2009). Até o momento, 16 espécies de epífitas foram descritas em associação com os ninhos dessas espécies de formigas. Destas espécies, quatro estão sempre presentes nesses jardins: *Peperomia macrostachya* (Piperaceae), *Codonanthes calcarata* (Gesneriaceae), *Anthurium trinerve* e *Philodendron megalophyllum* (Araceae). As demais espécies de epífitas ocupam os jardins após o estabelecimento dessas plantas (Jacovak 2006).

Área de trabalho

Eu realizei o trabalho na ARIE do Km 41 (02°24' S - 59°22' O), uma floresta contínua de terra firme que está sob gerenciamento do Projeto Dinâmica Biológica de Fragmentos Florestais (PDBFF) vinculado ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia

(INPA). A ARIE está localizada na Amazônia Central, a cerca de 80 Km ao norte de Manaus, Amazonas, Brasil. O clima da área é tropical quente úmido, com estação chuvosa de junho a outubro. A pluviosidade anual varia entre 1900 e 2500 mm e a temperatura anual média é 26,7 °C (Lovejoy & Bierregaard 1990).

Coleta de dados

Para testar a resposta das formigas a diferentes estímulos de defesa, eu selecionei 20 jardins de formigas localizados a até 2 m de altura e ocupados pelas duas espécies de formigas parasimbiotes, *Camponotus femuratus* e *Crematogaster levior*. Selecionei jardins na borda da floresta delimitada pela estrada de acesso ao alojamento da ARIE. Em cada jardim eu apliquei três tratamentos: (1) extrato de folhas de *Peperomia macrostachya* (Piperaceae) (0,34 g/ml); (2) extrato de cupins (cinco cupins/ml) e (3) água (controle). Eu selecionei *P. macrostachya* por ter sido a espécie de epífita encontrada em associação com as formigas em todos os jardins de formigas selecionados. Preparei os extratos de folhas das epífitas dos jardins não usados nos experimentos. Para evitar que os extratos oxidassem,

preparei os extratos imediatamente antes da aplicação em cada jardim.

Embebi os extratos em algodão e os ofereci suspensos sobre folhas de *P. macrostachya* próximas a entrada dos ninhos, sem formigas realizando o patrulhamento. Apliquei um tratamento por vez em cada jardim, com intervalo de 20 min entre cada. Após a aplicação de cada tratamento, eu observei ao longo de 10 min se as formigas foram atraídas pelos estímulos, o tempo que as formigas levaram para responder ao estímulo e o número de formigas recrutadas.

Análise dos dados

Usei modelo log-linear para comparar a resposta das formigas aos tratamentos (extrato de *P. macrostachya*, extrato de cupim e água). Para este teste, usei os tratamentos como variável preditora, os jardins como blocos e a presença ou ausência de formigas atraídas pelos extratos e água como variável resposta. Para analisar como o tempo de encontro e o número de formigas recrutadas variaram em função dos estímulos, eu usei modelos lineares gerais. Usei os tratamentos como variável preditora categórica, os jardins como blocos e o tempo que as formigas levaram para encontrar o estímulo e o número de

formigas recrutadas como variáveis resposta.

Se a minha hipótese (1) for verdadeira eu espero que as formigas respondam mais rapidamente e recrutem mais indivíduos quando estimuladas por compostos voláteis liberados pelo extrato de folhas das epífitas em comparação com os compostos liberados pelo extrato de cupim. Por outro lado, se a hipótese (2) for verdadeira, eu espero que as formigas respondam aos estímulos liberados pelo extrato de cupim.

Resultados

Formigas *Camponotus femuratus* foram as únicas que responderam aos estímulos voláteis liberados pelos tratamentos. Formigas *Crematogaster levior* estavam ativas durante o período do experimento, contudo não se aproximaram dos algodões contendo os extratos. As formigas foram atraídas igualmente pelos três tratamentos ($\chi^2=23,84$; gl=40; p=0,98). Quando ofereci os extratos de *P. macrostachya*, 97% atraíram formigas. Para o extrato de cupim a atração ocorreu em 57% dos casos e para água em 60% das vezes. Formigas responderam aos estímulos liberados pelo extrato das folhas de *P. macrostachya* seis vezes mais rápido

quando comparado com extrato de cupim e quatro vezes mais rápido em comparação com o controle ($F_{(2,31)}=18,50$; $p<0,001$; Figura 1). O número de formigas recrutadas em

resposta aos estímulos voláteis liberados pelas folhas da epífita foi sete vezes maior que o extrato de cupim e nove vezes maior que o controle ($F_{(2,38)}=31,32$; $p<0,001$; Figura 2).

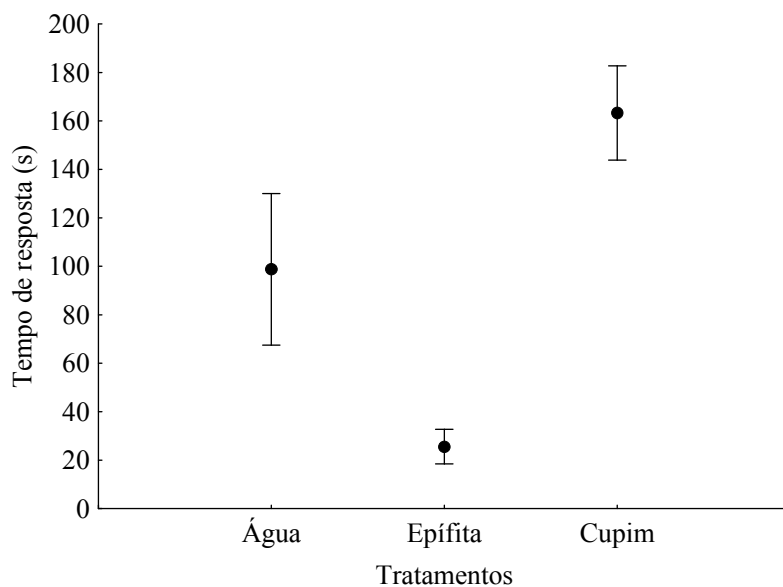


Figura 1. Tempo médio de resposta de formigas *Camponotus femuratus* a estímulos voláteis liberados por extratos de folhas da epífita *Peperomia macrostachya* (Piperaceae), de cupins e de água. Pontos indicam médias e as barras verticais o erro padrão.

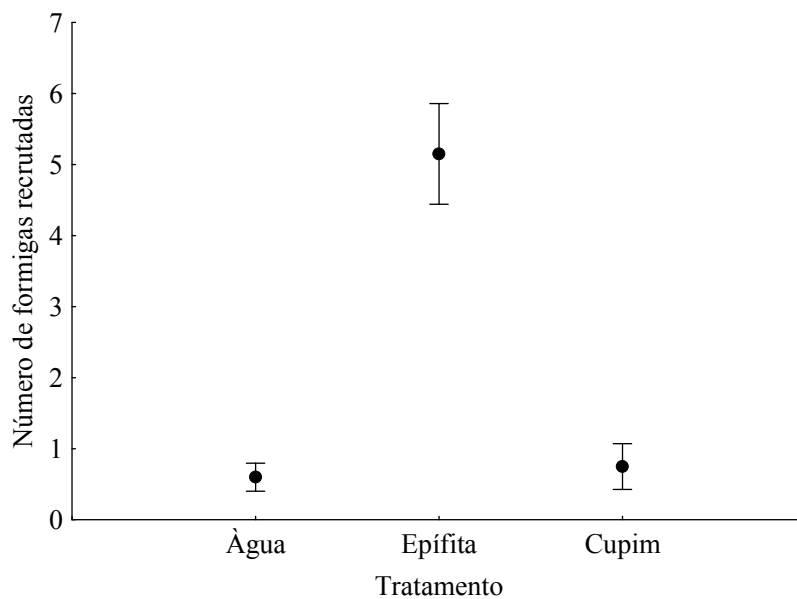


Figura 2. Número médio de formigas de *Camponotus femuratus* recrutadas nos jardins de formigas em resposta a estímulos voláteis liberados por extrato de folhas de *Peperomia macrostachya* (Piperaceae), de cupins e de água. Pontos indicam médias e as barras verticais o erro padrão.

Discussão

Embora os três tratamentos tenham sido igualmente atrativos, *Camponotus femuratus* respondeu mais rapidamente e recrutou mais operárias apenas em resposta ao extrato das folhas da epífita. A alta frequência de atração das formigas nos três tratamentos sugere que estas formigas são capazes de perceber todos os estímulos ofertados, contudo a resposta de recrutamento só é desencadeada pelos sinais químicos das plantas do jardim. Estas evidências corroboram a minha hipótese de que as formigas defendem os jardins de forma similar ao observado em plantas com domáceas.

O fato de *Camponotus femuratus* ter recrutado maior número de operárias em resposta ao extrato da epífita é uma evidência de que o comportamento de recrutamento das formigas é mais forte em resposta a ameaças contra o ninho. Contudo, não é possível excluir a possibilidade de que os voláteis possam ser uma pista química da presença de herbívoros sobre as plantas, com o recrutamento ocorrendo para capturar o herbívoro e usá-lo como alimento (Christianini & Machado 2004, Peixoto 2005). Esse seria um comportamento possível para essas formigas que vivem em parasimbiose, uma vez que recursos ricos em nitrogênio são escassos no

dossel da floresta e extremamente valiosos para elas (Omena 2009).

Formigas *C. femuratus* são competitivamente dominantes, possuem comportamento agressivo e recrutamento em massa diante de um estímulo que indique herbivoria ou presença de herbívoro (Ness *et al.* 2010). Tal comportamento, associado a resposta aos extratos da planta, indica que *C. femuratus* são eficientes na defesa das epífitas do jardim e do ninho. Formigas do gênero *Crematogaster* não possuem esse comportamento e são poucos hábeis na percepção de compostos voláteis sinalizadores de herbivoria em plantas e na remoção de herbívoros, sendo então pouco eficientes na defesa do jardim (Vasconcelos & Davidson 2003). Como a parasimbiose é comum entre espécies de formigas arborícolas, a co-ocorrência de *C. levior* com *C. femuratus* em ninhos arborícolas pode ter criado uma situação benéfica para o surgimento desses jardins de formigas. Uma vez nestes jardins, epífitas podem ser beneficiadas pelas duas espécies de formiga, com *C. femuratus* sendo eficiente na defesa contra herbívoros e *C. levior* na construção e manutenção dos ninhos que sustentam as epífitas.

A resposta de *C. femuratus* aos compostos voláteis da epífita do jardim

é uma evidência de que em jardins de formigas a relação entre as formigas parasimbióticas e plantas epífitas pode ser mutualística com obrigatoriedade entre parceiros. A relação íntima entre plantas que ofertam recursos e suas formigas parceiras pode ter gerado um processo coevolutivo que culminou na capacidade de formigas em detectar e responder a sinais químicos liberados pela plantas parceiras (Christianini & Machado 2004). Dessa forma, associações mutualísticas obrigatórias entre formigas e plantas podem ter convergido em resposta a pressões seletivas similares, gerando um padrão de detecção e resposta a sinais químicos em sistemas planta-formiga com diferentes características, como nas mirmecófitas e nos jardins de formiga.

Agradecimentos

Esse foi o momento mais temido de todo o curso. Escrever os agradecimentos e me despedir dos meus mais novos amigos de infância. Foi só um mês de convivência, mas a saudade vai ser do tamanho de uma vida! Tenho muito o que agradecer, mas certamente se fosse escrever tudo o que carrego dentro do peito agora, este trabalho seria só um apêndice dos agradecimentos. Mas eu tenho que

tentar fazer isso em poucas palavras, então vamos lá!

Agradeço ao PDBFF e a todos os parceiros que possibilitaram a realização desse curso, que concede (e espero que continue concedendo) essa chance ímpar de aprendizado. Agradeço ao Júnior, ao João e a Dona Eduarda, por nunca deixarem faltar o suco de cajú e a goiabada nossa de cada dia. A todo os professores e avaliadores, em especial ao Fabrício, ao Paulo Estefano e ao Gustavo Romero. Às lindas monitoras, Dani e Claudinha, por serem tão amigas e prestativas, sempre nos ajudando a melhorar, seja os relatórios ou as festas. Agradeço a todos os meus companheiros de aventuras por todas as festas destrutivas (que o diga o flutuante), por todas as conversas, risadas, carinho, abraços (que nos momentos de desespero eles valeram ouro), que fizeram os meus dias aqui mais felizes. Em especial, agradeço a minhas eternas companheiras, amigas e coleguinhas, Kátia e Gabi, por serem tão amigas e tão presentes no EFA e na minha vida. À Oferenda e Miss Joelhito na Fucita (Camila) e à Darrrrrleny Charrrrrlene (Alêny) com quem me entendi como se já conhecesse a anos! Ao Branco (Thiago Kloss) por ter sido meu melhor vizinho de rede e ao Preto (Thiago Amorim) pela sua gentileza e

educação sem fim. Ao Demétrius (que liiiinnnnndoooo) pela melhor soja do universo e ao meu anjo pelas lindas surpresas.

Por fim, ficou o agradecimento mais especial, um agradecimento rosa e purpurinado. Agradeço do fundo do meu coração ao Paulinho (Rainbow Fucking Make-a-check Master) pelas suas palavras de incentivo (Chama a balança!) e pelos seus puxões de orelha que me fizeram repensar a forma com que eu encarava minha vida profissional. Pela alegria cotidiana e pela sua animação nas festas. Pela sua compreensão e paciência nas correções que me fizeram perder (ou pelo “menas” reduzir) o medo de errar. Muito obrigada por tudo! Admiro muito você! Mais ainda porque sei que você me escolheu porque sou pernambucana e uso vestido balonê!

Referências

- Agrawal, A.A. 1998. Leaf damage and associated cues induce aggressive ant recruitment in a neotropical ant-plant. *Ecology*, 79:2100-2112.
- Bruinsma, M & Dicke, M. 2008. Herbivore-induced indirect defense: from induction mechanisms to community ecology, pp. 31-60. In: Induced plant resistance to herbivory (Schaller, A., ed.). Berlin: Springer.
- Christianini, A.V. & G. Machado. 2004. Induced biotic responses to herbivory and associated cues in the Amazonian ant-plant *Maieta poeppigii*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 112:81-88.
- Davidson, D.W. 1988. Ecological studies of neotropical ant gardens. *Ecology*, 69:1138-1152.
- Hölldobler, B. & E.O. Wilson 1990. The ants. Cambridge: Harvard University Press.
- Heil, M. & D. Mckey. 2003. Protective ant-plant interactions as model systems in ecological and evolutionary research. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 34:425–453.
- Jacovak, A.C.C. 2006. Jardins suspensos da Amazônia: composição florística e sucessão de espécies em jardins de formigas. In: Ecologia da Floresta Amazônica (Camargo, J. & G. Machado, eds.). Instituto Nacional de Pesquisas Amazônicas, Manaus.
- Lovejoy, T.E. & R.O. Bierregaard. 1990. Central Amazonian forests and the minimum critical size of ecosystem project. In: Four neotropical rainforest (Gentry,

- A.H., ed.). New Haven: Yale University Press.
- Ness, J., K. Mooney & L. Lochi. 2010. Ants as mutualists. In: Ant ecology (Lochi, L, C.L. Parr & K.L. Abott, eds.). Oxford: Oxford University Press.
- Omena, P.R. 2009. Amigos amigos, negócios a parte: uso de recursos ricos em nitrogênio por duas espécies de formigas parabióticas. In: Ecologia da Floresta Amazônica (Camargo, J.C., F. Pinto, G. Machado & P.E.C. Peixoto). Instituto Nacional de Pesquisas Amazônicas, Manaus.
- Peixoto, P.E.C. 2005. Respostas comportamentais da formiga *Pheidole minutula* (Hymenoptera: Formicinae) a estímulos químicos e biológicos: compostos voláteis são identificados pelas formigas? In: Ecologia da Floresta Amazônica (Machado, G. & H. Nascimento, eds.). Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus.
- Santos, A.J. 1999. Defesa contra herbivoria por formigas em *Phyllodendron megaphyllum* (Araceae), uma epífita de jardins de formiga. In: Ecologia da Floresta Amazônica (Hopkins, M. & E. Venticinque, eds.). Instituto Nacional de Pesquisas Amazônicas, Manaus.
- Schaller, A. 2008. Induced plant resistance to herbivory. Berlin: Springer.
- Vasconcelos, H.L. & D.W. Davidson. 2003. Relationship between plant size and ant associates in two Amazonian ant-plants. *Biotropica*, 31:100-111.
- Vieira-Neto, E., A. Maciel, D. Kasper & R. Souza. 2006. Jardins suspensos da Amazônia Central: história natural e um teste de hipótese sobre interações entre formigas e epífitas. In: Ecologia da Floresta Amazônica (Camargo, J. & G. Machado, eds.). Instituto Nacional de Pesquisas Amazônicas, Manaus.